



**Universidade Federal da Paraíba
Centro de Ciências da Saúde
Curso de Graduação em Farmácia**



Ana Júlia de Moraes Santos Oliveira

**Avaliação da atividade antifúngica de amidas derivadas do ácido
3,4,5-trimetóxi-cinâmico frente a espécies de *Candida***

**João Pessoa-PB
2016**

Ana Júlia de Moraes Santos Oliveira

Avaliação da atividade antifúngica de amidas derivadas do ácido 3,4,5-trimetóxi-cinâmico frente a espécies de *Candida*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Farmácia, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do **Grau de Bacharel em Farmácia**.

Orientador: Prof. Dr. Damião Pergentino de Sousa

Colaboradora: Profa. Dra. Edeltrudes de Oliveira Lima

**João Pessoa-PB
2016**

O48a Oliveira, Ana Júlia de Morais Santos.

Avaliação da atividade antifúngica de amidas derivadas do ácido 3, 4, 5-trimetóxi-cinâmico frente a espécies de *Candida* / Ana Júlia de Morais Santos Oliveira. - - João Pessoa, 2016.

40f.: il. -

Orientador: Damião Pergentino de Sousa.

Colaboradora: Edeltrudes de Oliveira Lima.

Monografia (Graduação) – UFPB/CCS.

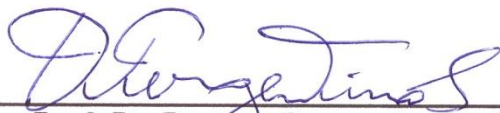
Ana Júlia de Moraes Santos Oliveira

**Avaliação da atividade antifúngica de amidas derivadas do ácido 3, 4, 5
trimetóxi-cinâmico frente a espécies de *Candida***


Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Coordenação do Curso de
Graduação em Farmácia, do Centro de
Ciências da Saúde, da Universidade
Federal da Paraíba, como parte dos
requisitos para obtenção do **Grau de
Bacharel em Farmácia**.

Aprovado em 29/11/2016

Banca Examinadora



Prof. Dr. Damiano Pergentino de Sousa
(Universidade Federal da Paraíba)
Orientador



Prof. Dr. Ricardo Dias de Castro
(Universidade Federal da Paraíba)
Examinador



Dr. Ricardo Carneiro Montes
(Universidade Federal da Paraíba)
Examinador

Dedico este trabalho a toda minha família, que é o motivo de ter chegado até aqui, e a todas as pessoas que direta ou indiretamente colaboraram para que todas essas realizações acontecessem.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida, força e paciência para galgar dia a dia, e por ter proporcionado tantas coisas boas na minha vida.

À minha mãe, Jordânia, por ser meu porto seguro e minha conselheira fiel, que sempre está do meu lado, mesmo estando longe e ao meu pai, Erivar, pelo apoio e incentivo dado. Às minhas irmãs Júlia e Juliana por cada palavra de incentivo e de amor. Ao meu sobrinho lindo que mesmo sendo uma criança, me fez ver o real sentido da vida e o quanto somos especiais aos olhos de Deus. Todas as minhas conquistas são deles e para eles.

Aos familiares que de alguma forma contribuíram durante a minha caminhada, em especial Titio Dodi, Tia Nelb, Titio Leudo e Tia Sirley que me deram apoio, incentivo, sou muito grata.

Ao meu namorado Danilo Rangel e sua família por toda paciência, carinho, apoio e amor. Sempre que precisei eles estavam prontos a me ajudar.

A Tatyanna Kélvia e sua família por terem me acolhido e me dado apoio no início da minha caminhada.

Às minhas amigas/irmãs que a farmácia fez questão de me presentear, Rayanne Hellen e Bárbara Cavalcanti, por todas as broncas, apoio, carinho, companheirismo, incentivo e noites em claro de estudos durante todos os anos.

Agradeço ao Prof. Dr. Damião Pergentino de Sousa por ter me dado a oportunidade de fazer Iniciação Científica em seu laboratório, por todos os ensinamentos e incentivos que contribuíram muito para a minha formação acadêmica. Agradeço também a todos os professores que de alguma forma contribuíram para a minha formação.

A todos os amigos do Laboratório de química farmacêutica: Anne, Lázaro, Marianna, Flávio, Alana, Rayanne Hellen, Ricardo, Mayara por todas as orientações, apoio e amizade.

RESUMO

Título: Avaliação da atividade antifúngica de amidas derivadas do ácido 3,4,5-trimetóxi-cinâmico frente a espécies de *Candida*

Na biodiversidade mundial, encontra-se o gênero *Piper* que tem demonstrado uma grande abundância de metabólicos com atividades biológicas diversas. Podendo ser citados: lignanas, neolignanas, terpenos, propenilfenóis, chalconas, flavonas, benzenopiranos e principalmente amidas. Nesse contexto, a substância piplartina, também conhecida como piperlongumina, que é uma amida fenilpropanóide trimetoxilada encontrada em algumas espécies do gênero *Piper*, demonstra diferentes atividades farmacológicas, dentre elas: atividades antifúngica, repelente e inseticida, leishmanicida, ansiolítica, antidepressiva, potente inibidor da agregação plaquetária, e ação espasmolítica em aorta de rato. Portanto, o presente estudo teve como objetivo preparar oito amidas derivadas do ácido 3,4,5-trimetóxi-cinâmico análogos da piplartina e avaliar seu potencial antifúngico, traçando uma relação estrutura-atividade. Entre as oito amidas preparadas no presente trabalho, três amidas apresentaram atividade frente às cepas de leveduras do gênero *Candida*. Destas, duas amidas apresentaram uma atividade moderada com valores de CIM de 1024 µg/mL frente cepas de *Candida albicans* e *Candida tropicalis*. A terceira amida teve ótima atividade biológica apresentando CIM de 256 µg/mL na maioria das cepas. A *N*-(4-hidroxifenetil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilamida foi a substância de melhor atividade biológica frente as cepas testadas. Análise comparativa das estruturas químicas das amidas sugere que a presença da hidroxila fenólica na *N*-(4-hidroxifenetil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilamida resultou em um aumento da potência fungicida, sendo quatro vezes mais potente para a maioria das cepas. Os dados obtidos no presente trabalho podem ser utilizados para avançar no estudo de novos protótipos antifúngicos.

Palavras-Chave: Amidas, piplartina, antifúngico, *Candida*.

ABSTRACT

Title: Evaluation of antifungal activity of amides derived from 3,4,5-trimethoxy-cinnamic acid against *Candida* species

In world biodiversity, is the genus *Piper* that has demonstrated a great abundance of metabolic with diverse biological activities. The following may be mentioned: lignans, neolignans, terpenes, propenylphenols, chalcones, flavones, benzenopyrans and especially amides. In this context, the substance piplartine, also known as piperlongumine, which is a trimethoxylated phenylpropanoid amide found in some species of the genus *Piper*, demonstrates different pharmacological activities, among them: antifungal, insecticide and repellent activities, leishmanicide, anxiolytic, antidepressive, potent inhibitor of platelet aggregation, and spasmolytic action in the rat aorta. Therefore, the present study aimed to prepare eight amides derived from 3,4,5-trimethoxy-cinnamic acid analogues of piplartine and to evaluate its antifungal potential, tracing a structure-activity relationship. Among the eight amides prepared in the present study, three amides presented activity against yeast strains of the genus *Candida*. Of these, two amides presented moderate activity with MIC values of 1024 µg/mL against strains of *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. The third amide had optimal biological activity by presenting MIC of 256 µg/mL in most strains. *N*-(4-hydroxyphenethyl)-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)acrylamide was the substance with the best biological activity against the tested strains. Comparative analysis of chemical structures of amides suggests that the presence of phenolic hydroxyl in *N*-(4-hydroxyphenethyl)-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)acrylamide resulted in an increase in fungicidal potency, being four times more potent for most of the strains. The data obtained in the present work can be used to advance the study of new antifungal prototypes.

Keywords: Amides, piplartine, antifungal, *Candida*.

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química da Piplartina.....	16
Figura 2 - Estrutura química dos ácidos cinâmicos.....	17
Figura 3 - Estrutura química da amida.....	17
Figura 4 - Hexafluorofosfato benzotriazoliloxi-tris(dimetilamino) – BOP.....	18
Figura 5 - Ativação por BOP.....	19
Figura 6 - Possíveis modos de ataque à BOP.....	19
Figura 7 - Esquema da reação de obtenção das amidas.....	21
Figura 8 - Amidas utilizadas.....	22
Figura 9 - Amidas preparadas.....	22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tempo de reação, sistema utilizado, rendimentos e aspecto das amidas preparadas.....	24
Tabela 2 - Resultados da avaliação da atividade antifúngica em CIM ($\mu\text{g/mL}$) contra <i>Candida</i> spp. das amidas preparadas.....	29

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µg – Micrograma

AIDS - Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

ATCC – American Type Culture Collection

BOP – Hexafluoro-fosfato(benzotriazol-1-iloxi)-tris-(dimetil-amino)-fosfônio

CCS – Centro de Ciências da Saúde

CCD – Cromatografia em Camada Delgada

CFM – Concentração Fungicida Mínima

CIM – Concentração Inibitória Mínima

DMF – Dimetilformamida

DNA – Ácido desoxirribonucleico

h – Hora

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana

HMPA – Hexametilfosforamida

IV – Infravermelho

LM – Laboratório de Micologia

mg – Miligrama

mL – Mililitro

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

UFPB – Universidade Federal da Paraíba

OBS: as abreviaturas e os símbolos utilizados neste trabalho e que não constam nesta relação, encontram-se descritas no texto ou são convenções adotadas universalmente.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	12
2.1 O gênero <i>Candida</i>	12
2.2 Infecções fúngicas causadas por <i>Candida</i> spp	12
2.3 Tratamento de infecções por <i>Candida</i> spp. e resistência aos antifúngicos disponíveis	14
2.4 O gênero <i>Piper</i> e a amida piplartina.....	15
2.5 Ácidos cinâmicos	16
2.6 Propriedades gerais e preparo das amidas	17
3. OBJETIVOS	20
3.1 Objetivo geral	20
3.2 Objetivos específicos	20
4. METODOLOGIA.....	21
4.1 Preparação das amidas.....	21
4.2 Avaliação da atividade antifúngica das amidas	25
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
5.1 Dados espectroscópicos das amidas preparadas	26
5.2 Avaliação da atividade antifúngica das amidas preparadas.....	29
6. CONCLUSÕES	33
REFERÊNCIAS.....	34

1. INTRODUÇÃO

Espécies do gênero *Candida* vivem como comensais no organismo humano, fazendo parte da microbiota normal de indivíduos saudáveis. Porém, quando há uma ruptura no equilíbrio da microbiota, ou o sistema imune do hospedeiro encontra-se comprometido, as espécies de *Candida* tendem a se manifestar de forma agressiva, tornando-se patogênicas (NAGLIK, 2003).

As infecções fúngicas podem ser causadas por diferentes tipos de leveduras, entre elas *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei* e *Candida parapsilosis*, porém, a espécie que prevalece é a *Candida albicans* (YANG, 2003).

A *Candida albicans* é o patógeno mais recorrente em infecções de orofaringe e cutâneas, é um fungo dimórfico, podendo gerar um broto ou formar hifas verdadeiras, o que leva à utilização de diferentes métodos de diagnóstico e tratamento dessas enfermidades (REX; WALSH; SOBEL, 2000; CROCCO et al., 2004).

Devido a um aumento do uso indiscriminado de antifúngicos, aliado ao crescimento do número de casos de pacientes imunossuprimidos tem levado ao aparecimento de linhagens fúngicas resistentes aos agentes antimicrobianos disponíveis no mercado, tornando necessária a pesquisa por novos agentes antifúngicos mais potentes, seguros e eficazes (HARTMANN, 2016).

Inserido nesse contexto, encontra-se os produtos naturais que desempenham um papel fundamental no processo de descoberta e de desenvolvimento de novos fármacos (NEWMAN; CRAGG, 2016), e podem ser obtidos de micro-organismos, plantas, organismos marinhos, anfíbios, entre outros animais (JONH, 2010).

Na biodiversidade mundial, encontra-se o gênero *Piper* que tem demonstrado uma grande abundância de metabólitos com atividades biológicas diversas. Podendo ser citados: lignanas, neolignanas, terpenos, propenilfenóis, chalconas, flavonas, benzenopiranos e principalmente amidas. Nesse gênero estão inseridas as espécies *Piper longum* L. (pimenta longa), *Piper tuberculatum* L. (pimenta-d'arda), *Piper arborescens* Roxb. (Pimenta do fruto ganchoso), *Piper callosum* Ruiz & Pav. (João Brandim), *Piper retrofractum* Vahl. e *Piper sylvaticum* Roxb. Nessas espécies encontra-se uma amida da classe dos alcalóides conhecida como pipartina (PARMAR et al., 1997).

Portanto o presente trabalho teve a finalidade de preparar amidas derivadas do ácido 3,4,5-trimetóxi-cinâmico, análogas da piplartina, e avaliar seu potencial antifúngico frente as cepas de *Candida*, traçando uma relação estrutura-atividade.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 O gênero *Candida*

As espécies do gênero *Candida*, segundo a taxonomia, estão inseridas no Reino *Fungi*, Divisão *Eumycota*, Subdivisão *Deuteromycotina*, Filo *Ascomycetes*, Classe *Blastomycetes*, Ordem *Cryptococcales*, Família *Cryptococcaceae*, Gênero *Candida* (GIOLO E SVIDZINSKI, 2010; LÓPEZ-MARTÍNEZ, 2010).

A candidíase ou candidose é causada por leveduras do gênero *Candida*, onde a lesão pode ser branda, aguda ou crônica, profunda ou superficial e de clínica bem variável. O agente principal das candidíases é a *C. albicans*, essa espécie está presente em cerca de 60% das amostras clínicas isoladas (CHAVES, 2003; MENEZES, 2004).

A maior parte da literatura específica atualmente indica que 25% a 50% dos indivíduos sadios possuem *Candida* como parte da microbiota normal da boca, sendo *C. albicans* responsável por 70 a 80% dos isolados (MURRAY et al., 2010).

No Brasil, a taxa de incidência de infecções fúngicas hospitalares relatadas foi maior que a dos países europeus e dos Estados Unidos, sendo *C. albicans* a espécie mais frequentemente isolada em todos os hospitais, e entre as outras espécies envolvidas nos processos infecciosos houve predominância de *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* (COLOMBO, 2000; COLOMBO et al., 2007).

2.2 Infecções fúngicas causadas por *Candida* spp

As infecções fúngicas passaram a receber uma maior atenção a partir do século passado, especialmente, nas duas décadas finais. São os de maior distribuição na natureza, dentre os agentes oportunistas existentes, sendo encontrados em plantas, nos alimentos, no solo, na água, no ar e nas superfícies inanimadas de domicílios e hospitais e no organismo dos humanos. Os fungos

podem colonizar a pele e mucosas do trato gastrointestinal e respiratório (BARBEDO; SGARDI, 2010).

Pacientes que se encontram imunocomprometidos, portadores da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), de doenças crônicas a exemplo do câncer, pacientes que passaram por transplantes de medula óssea ou órgãos sólidos e que fazem uso de corticosteroides por tempo prolongado são mais suscetíveis a desenvolver infecção por fungo (NETO, 2004).

As formas mais comuns de infecções fúngicas oportunistas são as candidíases vulvovaginal e oral. A candidíase vulvovaginal ocorre especialmente em mulheres que se apresentam no período entre a puberdade e a menopausa. É identificada pela presença de lesões na vulva ou vagina, de coloração esbranquiçada. Os grupos que são mais predisponentes a desenvolver infecções por *Candida* são grávidas, diabéticos que fizeram uso da terapêutica microbiana prolongada ou que fazem uso de método contraceptivo oral. A candidíase que acomete a mucosa oral possui diversas formas clínicas: a pseudomembranosa (sapinho), a eritematosa, a hiperplásica e a mucocutânea. Os fatores principais que estão ligados à infecção oral são má higienização de prótese dentária, aparelhos ortodônticos, pacientes portadores da síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS) e outras doenças imunossupressoras (HOLANDA et al., 2007; RODRIGUES et al., 2007; EGUSA et al., 2008; ANDRIOLI et al., 2009; PIROFSKI; CASADEVALL, 2009).

A candidíase pode se apresentar também na forma cutânea, onde se desenvolve em áreas úmidas do corpo como: debaixo das unhas, axilas, regiões das mamas, espaços interdigitais e pregas das virilhas (COUTO; CARLOS; MACHADO, 2011).

A forma mais comum de infecção disseminada causada por *Candida* é a chamada candidemia, onde as espécies mais comumente isoladas são *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* e *C. krusei*. A mortalidade atribuída direta ou indiretamente à candidemia é de 40% a 60% (GIOLO; SVIDZINSKI, 2010).

Em face do aumento da resistência das linhagens fúngicas aos antifúngicos disponíveis no mercado, torna-se de grande importância a pesquisa de novas substâncias que sejam biologicamente ativas contra essas leveduras. Por essa razão, nas últimas décadas a área de produtos naturais têm atraído pesquisadores, por causa do grande número de compostos biologicamente ativos que podem ser

extraídos de plantas da flora brasileira e que possam ter atividade antifúngica (YUNES; PEDROSA, 2001).

2.3 Tratamento de infecções por *Candida* spp. e resistência aos antifúngicos disponíveis

O desenvolvimento de infecções fúngicas sistêmicas tem crescido a cada ano, principalmente as oportunistas invasivas, isso se deve a fatores predisponentes como Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), *diabetes mellitus*, leucemia, linfoma, entre outras enfermidades. Diante disso, o avanço de um agente antifúngico é um grande desafio, pelo fato de haver poucos alvos potenciais de ação que não sejam compartilhados pelo fungo e a espécie humana. O antifúngico ideal deve apresentar um amplo espectro, ter ação fungicida e não fungistática, apresentar-se em formulações oral e parenteral, gerar pouca interação medicamentosa, ser seguro em doses eficientes, ter baixo custo e desenvolver menor resistência microbiana (HAZEN, 1995; ANDES, 2004).

Em relação ao tratamento da candidíase, grande quantidade de fármacos obtidos por meio de síntese orgânica tem sido utilizada no tratamento de infecções micóticas superficial ou sistêmica atualmente. As principais classes de antifúngicos são: os poliênicos, azóis e as equinocandinas; estes agentes exercem sua ação à nível da membrana ou parede. Porém, as infecções fúngicas são de difícil tratamento, fato relacionado à elevada resistência da *Candida* frente à ação de alguns antifúngicos convencionais (ARAÚJO et al, 2004; COLOMBO, 2013).

Desta forma, os antifúngicos hoje disponíveis no mercado possuem limitações terapêuticas, principalmente quando se analisa seus efeitos colaterais como a hepatotoxicidade e nefrotoxicidade. O que contribui para o desenvolvimento de cepas resistentes aos antifúngicos se deve ao fato de alguns apresentarem ação fungistática e não fungicida (ZACCHINO et al., 2003; RANG; DALE; RITTER, 2012).

Um dos primeiros medicamentos utilizados no tratamento de candidíase foi a violeta de genciana. Seu uso era tópico e era bastante eficaz nos anos 40, embora não estivesse esclarecido completamente seu mecanismo de ação (ANDRADE, 2006).

A terapia antifúngica usada na candidíase superficial teve início com a introdução de antifúngicos poliênicos como a nistatina, e o tratamento das micoses

profundas é feito com o uso de anfotericina B, que atuam reagindo com esteróis das membranas celulares do fungo formando poros ou canais, aumentando a permeabilidade da célula, levando a um extravasamento do conteúdo citoplasmático e consequente morte da célula. Contudo, novas substâncias sintéticas ativas contra leveduras vêm merecendo destaque especial, como a 5-flucitosina e os derivados azólicos, entre os quais o miconazol, clotrimazol, cetoconazol, fluconazol e itraconazol, onde sua ação ocorre pela inibição da síntese de ergosterol, inibindo assim o crescimento do fungo, levando-o a necrose celular (SALLES, 2000; TAVARES, 2001; SOYSA et al., 2008; GOODMAN; GILMAN, 2012).

Segundo Andrade (2006), um grande avanço foi dado à terapia antimicótica com a descoberta dos azóis, que por sua vez, possuem menor toxicidade comparados com a anfotericina B, apresentam largo espectro de atividade e alguns podem ser administrados por via oral, exercendo ação sistêmica. No entanto, o antifúngico da classe dos azóis, o miconazol, tem uso restrito na forma injetável, devido à toxicidade do mesmo, podendo desenvolver reações colaterais, por isso se emprega o uso do miconazol na forma de gel oral.

Diante disso, o aumento dos casos de candidíase de uma forma geral, associado a altas taxas de morbidade, é particularmente, ocasionado pelos inúmeros casos de resistência que são verificados frente a drogas sintéticas e também ao aparecimento de efeitos tóxicos (NASCIMENTO et al., 2007).

Por este motivo são realizados estudos com ênfase em produtos naturais, visando criar substâncias sintéticas que tenham uma atividade farmacológica superior ao produto natural, usando a relação estrutura-atividade.

2.4 O gênero *Piper* e a amida piplartina

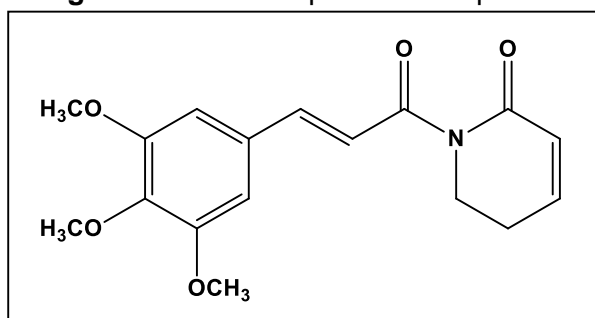
O gênero *Piper* pertence à família Piperaceae e suas espécies possuem folhas simples e alternadas e os caules são divididos por nodos salientes. As plantas desse gênero são comumente arbustivas e herbáceas, geralmente encontradas em vales e regiões de sub-bosques quentes e úmidos. São identificadas cerca de 2000 espécies, distribuídas por ambos os hemisférios nas regiões tropicais e subtropicais (TAYLOR; HICKEY, 1992; JARAMILLO; MANOS, 2001; DYER; PALMER, 2004).

Nesse gênero possui uma variedade de compostos bioativos, com destaque para a substância piplartina, também conhecida como piperlongumina, é uma amida

fenilpropanóide trimetoxilada encontrada em algumas espécies do gênero *Piper* (COSTA-LOTUFO et al., 2010). A piplartina tem apresentado diferentes atividades farmacológicas, dentre elas: atividades antifúngica, repelente e inseticida, leishmanicida, ansiolítica, antidepressiva, potente inibidor da agregação plaquetária, ação espasmolítica em aorta de rato (CAPRON e WIEMER, 1996; NAVICKIENE et al., 2000; PARK et al., 2007; SILVA et al., 2002; TSAI et al., 2005; BODIWALA et al., 2007; FELIPE et al., 2007; IWASHITA et al., 2007).

O efeito citotóxico da piplartina parece estar atribuído ao seu poder de inibição da síntese de DNA e indução de morte celular, tanto pela via de apoptose como de necrose, dependendo da concentração utilizada. Entretanto o mecanismo de ação ainda não foi elucidado (BEZERRA et al., 2007).

Figura 1: Estrutura química da Piplartina



Fonte: Oliveira, 2016.

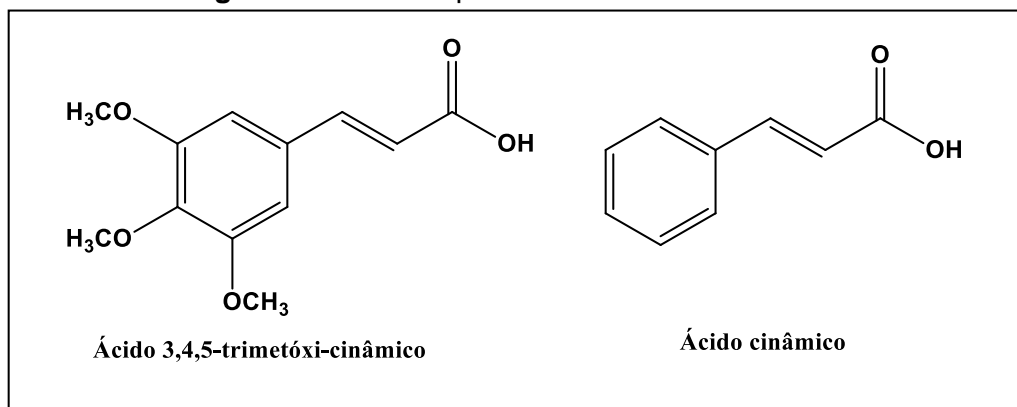
2.5 Ácidos cinâmicos

Os ácidos cinâmicos pertencem à classe de ácidos carboxílicos e possuem uma nomenclatura básica C6-C3, são encontrados normalmente em organismos do Reino *Plantae*. São formados pela via sintética dos fenilpropanoides, lignanas, cumarinas, auronas, antiocianinas, taninos, flavonoides. Esses metabólitos secundários desempenham papéis importantes no crescimento, reprodução e resistência das plantas. Podem ser encontrados em alimentos como: grãos de café, chá, mate, cacau, maçãs, peras, frutas cítricas, uva, legumes, espinafre, beterraba, alcachofra, batata, tomate, feijão, fava, e cereais. Podem formar ésteres em reações utilizando álcool, assim como também podem reagir com aminas aromáticas ou alifáticas gerando amidas. A piplartina é uma molécula relacionada com o ácido cinâmico que se mostra com importantes atividades biológicas, foi isolada pela

primeira vez de raízes de *Piper tuberculatum*, e posteriormente revelou-se um promissor anticancerígeno. Diante disso, vários estudos vêm surgindo na literatura sobre a aplicação de moléculas relacionadas com o ácido cinâmico como: anticancerígeno, antifúngico, antimicrobiano, antioxidante, entre outras atividades (GUZMAN, 2014).

Inserido no contexto, existe uma planta na medicina chinesa chamada *Polygala tenuifolia*, conhecida por ser uma erva que possui efeitos sedativos e é amplamente utilizada como tranquilizante, onde um dos seus constituintes é o ácido 3,4,5-trimetóxi-cinâmico, que é o ácido sintético utilizado na síntese das amidas propostas no presente trabalho (SHIN et al., 2009).

Figura 2: Estrutura química dos ácidos cinâmicos

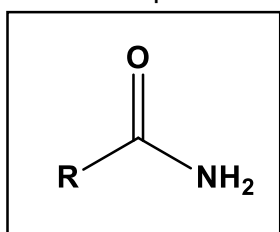


Fonte: Oliveira, 2016.

2.6 Propriedades gerais e preparo das amidas

A função amida é caracterizada pelo grupamento de átomos carbonila-nitrogênio. São moléculas polares e em sua maioria sólida, em temperatura ambiente. O grupo responsável por sua capacidade de solubilidade é o grupamento amino (CARVALHO, 1997).

Figura 3: Estrutura química da amida

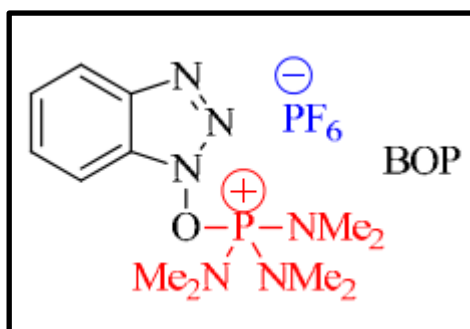


Fonte: Oliveira, 2016.

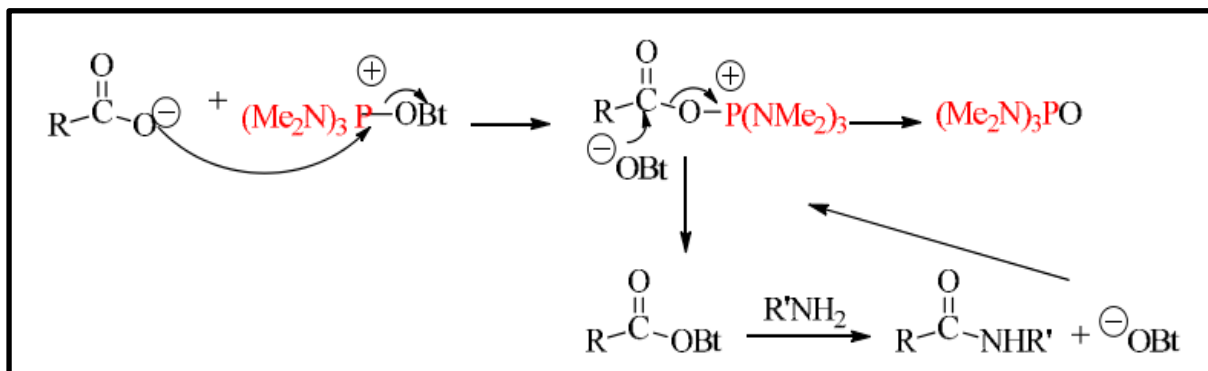
Para a preparação das amidas utilizou-se o método de amidação com o hexafluorofosfato benzotriazoliloxi-tris(dimetilamino), mais conhecido como BOP, que se apresenta como um sólido branco e sua função é de atuar como um agente acoplador e é comumente utilizado para síntese de peptídeos, podendo ser usado também para síntese de amidas utilizando como material de partida um ácido carboxílico e uma amina, dissolvidos ou diluídos em diclorometano (CH_2Cl_2), um solvente aprótico apolar (JOLLIÉ; LASSEN, 2010).

Em reações de larga escala o uso do BOP não é recomendado em função da formação de um agente carcinogênico, o hexametilfosforamida (HMPA), porém o risco também existe em pequena escala, mas é menor. O uso de um solvente aprótico apolar, juntamente com a dimetilformamida (DMF) que é um solvente aprótico polar, colabora para que ocorra com mais facilidade a reação de substituição do tipo $\text{S}_{\text{N}}2$, pelo fato do DMF aumentar a atividade nucleofílica dos ânions mais básicos. A presença da trietilamina na reação tem função de desprotonar a hidroxila do ácido carboxílico de escolha, então o DMF age acelerando a reação do oxigênio nucleofílico com o BOP. Na **figura 6** podem ser observados possíveis modos de ataque a BOP (CASTRO, 1975; RAJAN, 2001).

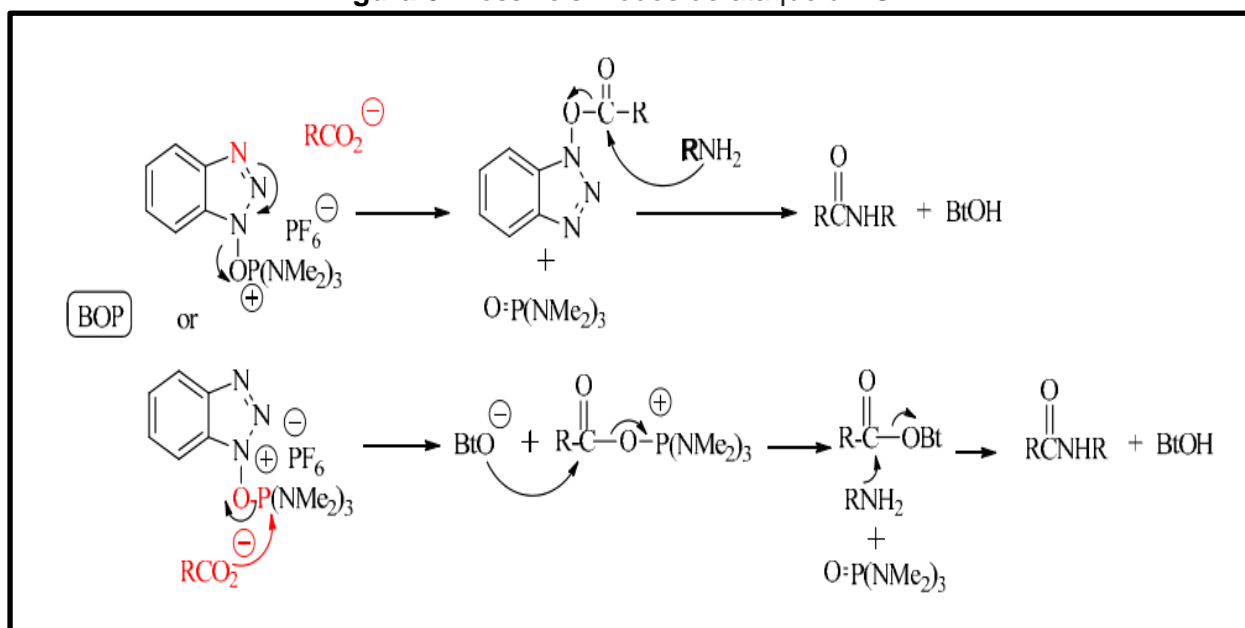
Figura 4: Hexafluorofosfato benzotriazoliloxi-tris(dimetilamino) - (BOP)



Fonte: JOLLIÉ E LASSEN, 2010.

Figura 5: Ativação por BOP

Fonte: JOLLIÉ E LASSEN, 2010.

Figura 6: Possíveis modos de ataque à BOP.

Fonte: JOLLIÉ E LASSEN, 2010.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar atividade antifúngica de uma coleção de amidas derivadas do ácido 3,4,5-trimetóxi-cinâmico e estabelecer uma relação estrutura-atividade das substâncias avaliadas.

3.2 Objetivos específicos

- Preparar oito amidas utilizando como material de partida o ácido 3,4,5-trimetóxi-cinâmico;
- Avaliar a atividade antifúngica das substâncias obtidas frente a cepas de *Candida* spp.;
- Traçar uma relação entre a estrutura e a atividade biológica, estabelecendo características químicas estruturais dos compostos obtidos para o desenvolvimento de novos protótipos de fármacos.

4. METODOLOGIA

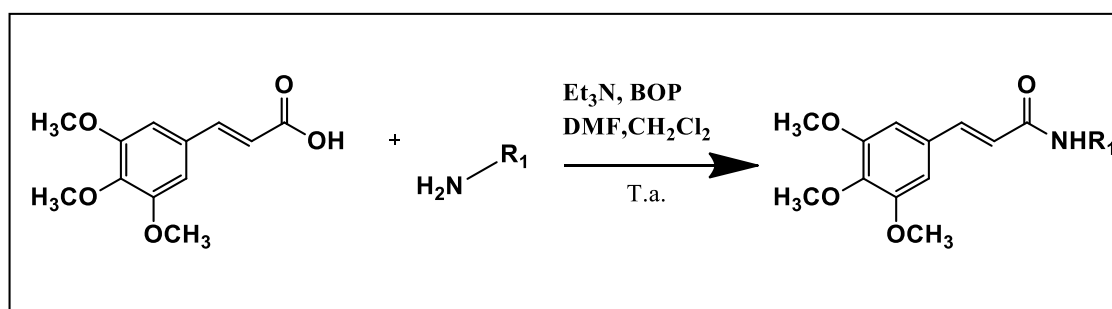
Os procedimentos de preparação das amidas foram realizados no Laboratório de Química Farmacêutica do Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde (CCS) - Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

A avaliação da atividade antifúngica foi realizada no Laboratório de Micologia do CCS/UFPB, sob a coordenação da Prof^a. Dr^a. Edeltrudes de Oliveira Lima, frente às cepas de *Candida* spp.

4.1 Preparação das amidas

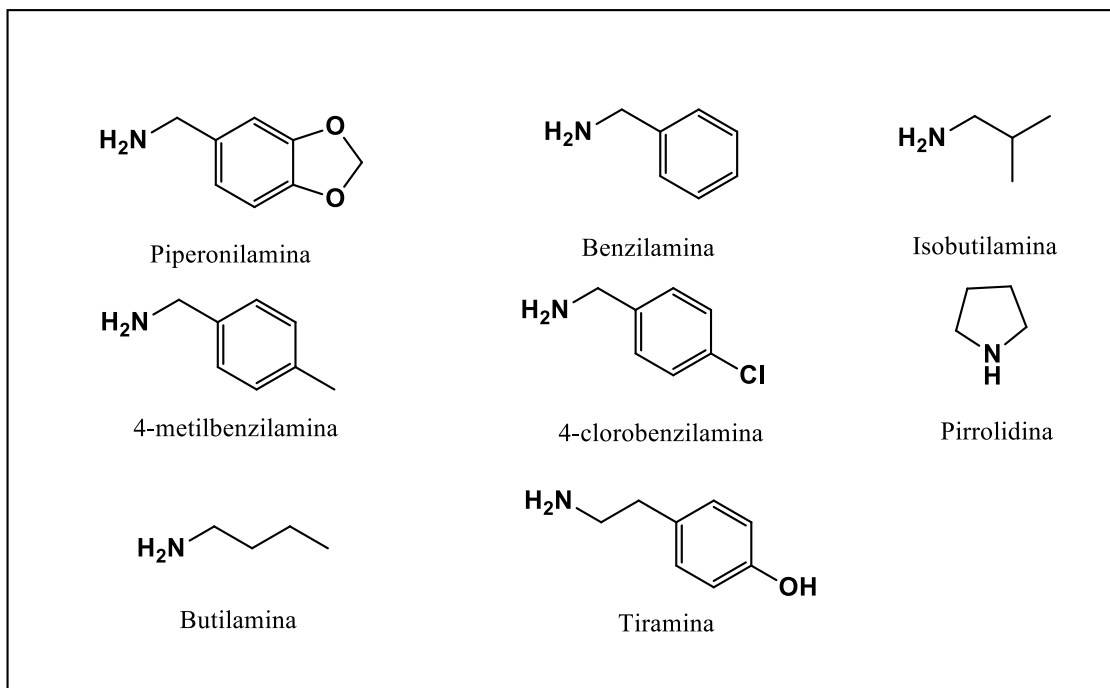
As amidas foram obtidas a partir de reações de aminas com o ácido 3,4,5-trimetóxi-cinâmico, com adição do agente acoplador (BOP) na presença de solventes como a trietilamina, dimetilformamida e o diclorometano em processo conhecido como reação de acoplamento a temperatura ambiente. A reação pode ser observada na **figura 7**.

Figura 7: Esquema da reação de obtenção das amidas



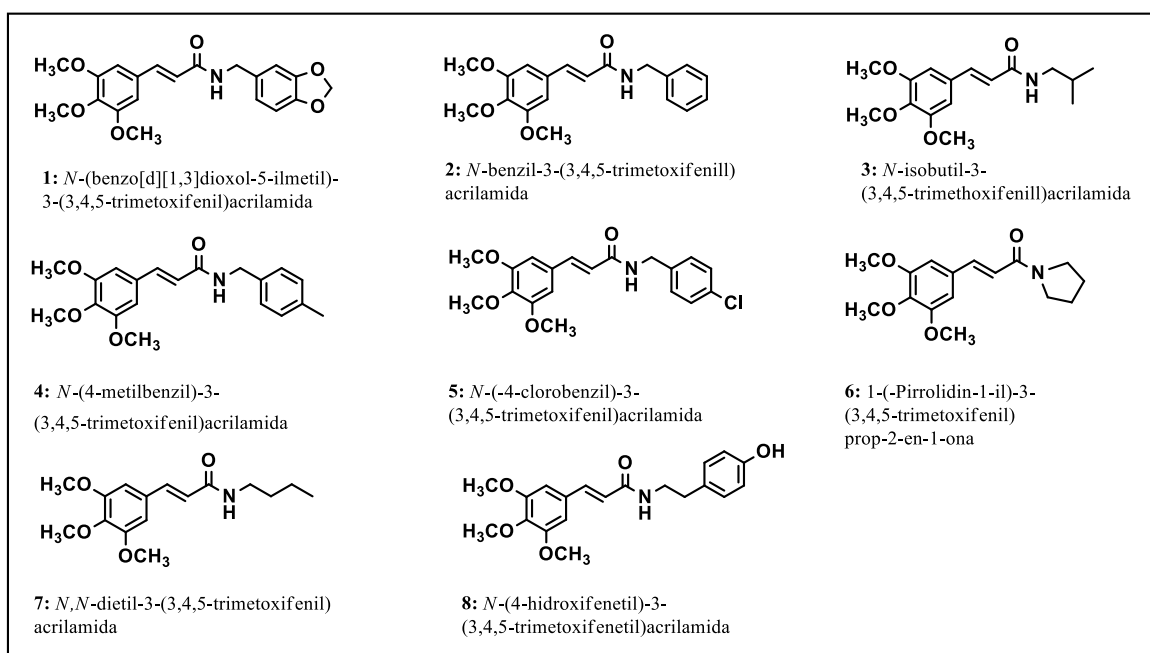
Fonte: Oliveira, 2016.

As aminas utilizadas como materiais de partida foram: piperonilamina, benzilamina, isobutilamina, 4-metilbenzilamina, pirrolidina, 4-clorobenzilamina, tiramine e butilamina, obtidos da empresa sigma-aldrich.

Figura 8: Aminas utilizadas

Fonte: Oliveira, 2016.

Para todas as reações foi utilizado o ácido 3,4,5-trimetóxi-cinâmico. As amidas obtidas podem ser observadas na **figura 9**.

Figura 9: Amidas preparadas

Fonte: Oliveira, 2016.

O procedimento reacional foi o mesmo para a preparação de todas as amidas. Cerca de 100 mg do ácido 3,4,5-trimetóxi-cinâmico foi dissolvido com aproximadamente 0,06 mL de trietilamina e 0,9 mL de dimetilformamida em balão de fundo redondo, sob banho de gelo e agitação magnética. Em seguida adicionou-se cerca de 0,05 mL da respectiva amina, posteriormente foi diluído cerca de 200 mg de BOP em 0,9 mL de diclorometano, e foram adicionados no meio reacional. A reação foi mantida em banho de gelo por 30 minutos em constante agitação magnética, após esse tempo foi retirada do banho de gelo, deixando em temperatura ambiente. As reações foram monitoradas através de placas de cromatografia de camada delgada analítica (CCD) de sílica gel, utilizando como eluente uma mistura de hexano e acetato de etila. O final das reações foi indicado por meio da ausência mancha do material de partida na placa cromatográfica, que quando o material de partida é consumido, desaparece da placa. Ao fim dos procedimentos reacionais, as amostras foram concentradas em rota-evaporador, e seguiram para os processos de extração.

O procedimento de extração utilizado foi semelhante para todos, da seguinte forma: após a concentração no rota-evaporador, para se retirar o excesso de solvente, o conteúdo do balão foi transferido para um funil de separação, neste foi adicionado água destilada (10 mL), acetato de etila do tipo P.A (10 mL), e separou-se a fase orgânica da fase aquosa; a fase aquosa foi tratada mais duas vezes com 10 mL de acetato de etila. A fração orgânica resultante foi então tratada com uma solução de ácido clorídrico (1N); seguindo-se, foi tratada com 10 mL de uma solução a 5% de bicarbonato de sódio (NaHCO_3), seguida de água destilada (10 mL) e por fim, a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), filtrada e transferida para um balão de fundo redondo, onde foi posta para concentrar no rota-evaporador.

O isolamento foi feito através da coluna cromatográfica com sílica gel 60, utilizando como eluentes o hexano e o acetato de etila, com exceção da amida **(6)** que foi utilizado como eluentes o acetato de etila e metanol. Cada procedimento foi acompanhado através de placas de cromatografia de camada delgada analítica utilizando os mesmos eluentes. Ao final de cada coluna se obteve a amida em questão isolada.

Na **tabela 1** estão designados os tempos de reação, os sistemas utilizados para cada amida, o aspecto de cada amostra, e os respectivos rendimentos das amidas obtidas.

Tabela 1 - Tempo de reação, sistema utilizado, rendimentos e aspecto das amidas preparadas

Amidas	Tempo de reação (h)	Sistemas	Proporção sistemas	Rendimento (%)	Aspecto
(1) <i>N</i> -(benzo [d] [1,3] dioxol-5-ilmetil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil) acrilamida	3	Acetato de etila e hexano	1:1	64,28	sólido amarelo
(2) <i>N</i> -benzil-3-(3,4,5-trimetoxifenil) acrilamida	18	Acetato de etila e hexano	4:6	74,96	sólido branco
(3) <i>N</i> -isobutil-3-(3,4,5-trimetoxifenil) acrilamida	18	Acetato de etila e hexano	6:4	58,19	sólido marrom
(4) <i>N</i> -(-4-metilbenzil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil) acrilamida	19	Acetato de etila e hexano	6:4	63,07	sólido amarelado
(5) <i>N</i> -(-4-clorobenzil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil) acrilamida	8	Acetato de etila e hexano	1:1	70,47	sólido branco
(6) 1-(-pirrolidin-1-il)-3-(3,4,5-trimetoxifenil) prop-2-en-1-ona	8	Acetato de etila e metanol	98:2	86,67	sólido marrom
(7) <i>N,N</i> -dietil-3-(3,4,5-trimetoxifenil) acrilamida	24	Acetato de etila e hexano	4:6	43,04	sólido amarelado
(8) <i>N</i> -(4-hidroxifenetil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil) acrilamida	24	Acetato de etila e hexano	1:1 e 6:4	95,65	sólido amarelado

Fonte: Oliveira, 2016.

As estruturas químicas das amidas preparadas foram confirmadas por Infravermelho e Ressonância Magnética Nuclear do ^1H e ^{13}C , com exceção da amida (**8**) que não pôde ser identificada, pelo fato de que tanto o aparelho de RMN como o de Infravermelho se apresentam com problemas técnicos, impossibilitando a leitura da substância. Posteriormente será realizada a confirmação da estrutura.

4.2 Avaliação da atividade antifúngica das amidas

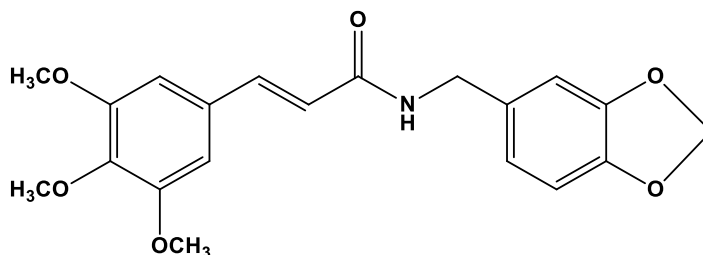
A atividade antifúngica dos compostos foi realizada no Laboratório de Micologia da UFPB pelo grupo da Prof^a. Dr^a. Edeltrudes de Oliveira.

Foram utilizadas as seguintes cepas de *Candida* spp. para a avaliação da atividade: *Candida albicans* ATCC-76485, *C. albicans* ATCC-76645, *C. albicans* LM-111, *C. albicans* LM-122, *Candida tropicalis* ATCC -13803, *C. tropicalis* LM-31, *C. tropicalis* LM-71, *C. tropicalis* LM-14. O método utilizado nos ensaios foi a técnica de microdiluição em caldo (CLEELAND e SQUIRES, 1991) com a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) dos produtos testados; os quais foram avaliados nas concentrações que variaram de 1024 a 64 $\mu\text{g/mL}$. Os ensaios foram realizados em duplicata, e após a determinação da CIM foi feito o cálculo para determinação da concentração fungicida mínima (CFM), onde os resultados foram expressos por média geométrica dos valores de CIM e CFM.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Dados espectroscópicos das amidas preparadas

1. *N*-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il-metil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilamida

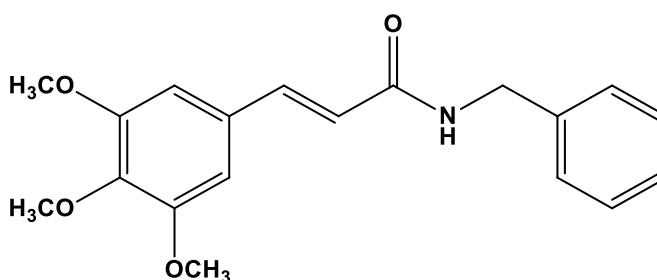


IV (KBr, cm^{-1}): 3257, 3061, 2963, 1665, 1603, 1553, 1125, 1010, 858.

RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz): δ 7,47 (*d*, $J = 15,5$ Hz, 1H); 6,74 – 6,57 (*m*, 5H); 6,30 (*d*, $J = 15,5$ Hz, 1H); 5,83 (*s*, 2H); 4,32 (*t*, $J = 11,9$ Hz, 2H); 3,77 (*s*, 3H); 3,74 (*s*, 6H).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz): δ 165,9; 153,4; 147,9; 147,0; 141,2; 139,5; 132,1; 130,5; 121,2; 120,0; 108,5; 108,3; 105,0; 101,1; 61,0; 56,1; 43,7.

2. *N*-benzil-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilamida

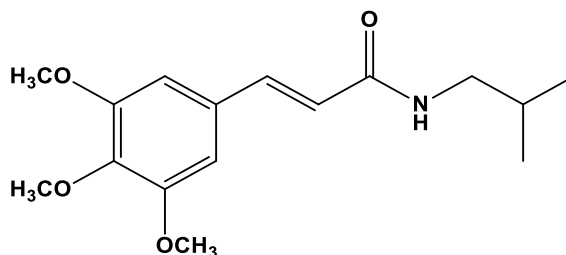


IV (KBr, cm^{-1}): 3289, 3082, 2957, 1653, 1620, 1557, 745.

RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz): δ 7,54 (*d*, $J = 15,5$ Hz, 1H); 7,36 – 7,20 (*s*, 5H); 6,66 (*s*, 2H); 6,36 (*d*, $J = 15,5$ Hz, 1H); 4,51 (*d*, $J = 5,7$ Hz, 2H); 3,82 (*s*, 3H); 3,80 (*s*, 6H).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz): δ 165,9; 153,4; 141,3; 138,2; 130,5; 128,8; 127,9; 127,6; 120,0; 104,9; 61,0; 56,1; 43,9.

3. *N*-isobutil-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilamida

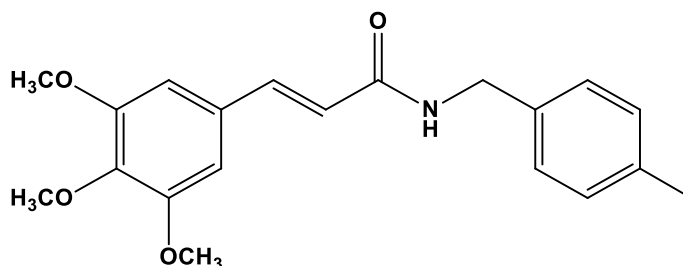


IV (KBr, cm^{-1}): 3304, 3072, 2947, 1655, 1618, 1544, 1468, 1368.

RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz): δ 7,52 (*d*, $J = 15,6$ Hz, 1H); 6,70 (*s*, 2H); 6,38 (*d*, $J = 15,5$ Hz, 1H); 6,12 (*s*, 1H); 3,84 (*s*, 3H); 3,83 (*s*, 6H); 3,19 (*t*, $J = 6,4$ Hz, 2H); 1,90 – 1,75 (*m*, 1H); 0,93 (*d*, $J = 6,7$ Hz, 6H).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz): δ 166,2; 153,4; 140,9; 139,5; 130,5; 120,2; 104,9; 61,0; 56,2; 47,3; 28,7; 20,2.

4. *N*-(4-metilbenzil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilamida

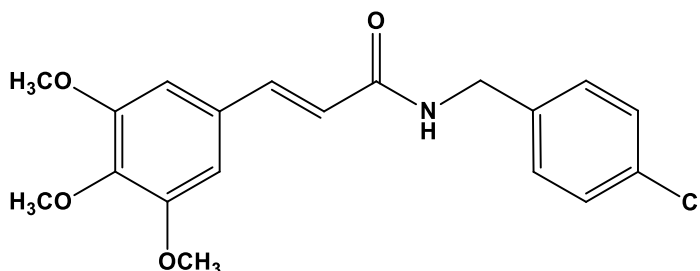


IV (KBr, cm^{-1}): 3252, 3013, 2936, 1651, 1609, 1462, 691.

RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz): δ 7,53 (*d*, $J = 15,5$ Hz, 1H); 7,22 – 7,05 (*m*, 4H); 6,66 (*s*, 2H); 6,34 (*d*, $J = 15,5$ Hz, 1H); 4,47 (*d*, $J = 5,5$ Hz, 2H); 3,82 (*s*, 3H); 3,80 (*s*, 6H); 2,29 (*s*, 3H).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz): δ 165,6; 153,3; 141,1; 139,4; 137,2; 135,0; 130,3; 129,3; 127,8; 120,0; 104,8; 60,9; 56,0; 43,6; 21,0.

5. *N*-(4-clorobenzil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilamida

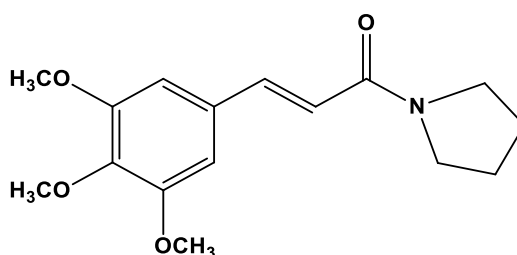


IV (KBr, cm^{-1}): 3292, 3071, 2930, 1904, 1651, 1616, 1452, 683.

RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz): δ 7,56 (*d*, $J = 15,5$ Hz, 1H); 7,40 – 7,11 (*m*, 4H); 6,70 (*s*, 2H); 6,38 (*d*, $J = 15,5$ Hz, 2H); 4,50 (*d*, $J = 5,8$ Hz, 2H); 3,85 (*s*, 3H); 3,83 (*s*, 6H).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz): δ 166,0; 153,4; 141,5; 139,7; 136,9; 133,3; 130,4; 129,2; 128,9; 119,8; 105,0; 61,0; 56,1; 43,1.

6. 1-(-Pirrolidin-1-il)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)prop-2-en-1-ona

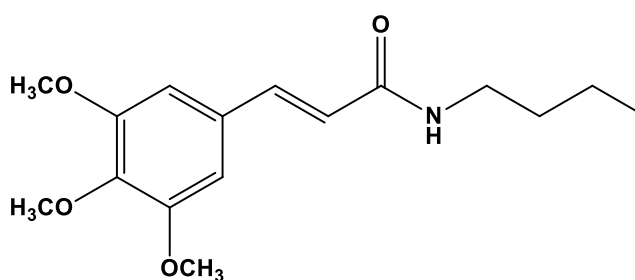


IV (cm^{-1}): 3049, 2963, 1709, 1645, 1603, 1450.

RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz): δ 7,59 (*d*, $J = 15,4$ Hz, 1H); 6,72 (*s*, 2H); 6,59 (*d*, $J = 15,4$ Hz, 1H); 3,86 (*s*, 6H); 3,84 (*s*, 3H); 3,68 – 3,51 (*m*, 4H); 2,10 – 1,74 (*m*, 4H).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz): δ 164,8; 153,4; 142,0; 139,5; 130,9; 118,0; 105,1; 61,0; 56,2; 46,8; 46,2; 26,2; 24,4.

7. *N,N*-dietil-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilamida

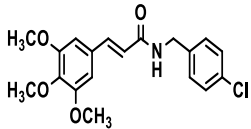
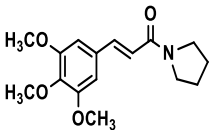
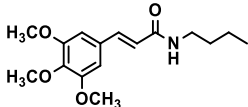
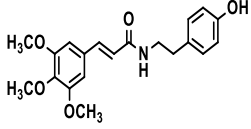


IV (KBr, cm^{-1}): 3292, 3015, 2933, 1655, 1618, 1460, 1418.

RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz): δ 7,50 (*d*, $J = 15,5$ Hz, 1H); 6,68 (*s*, 2H); 6,36 (*d*, $J = 15,5$ Hz, 1H); 3,83 (*s*, 3H); 3,82 (*s*, 6H); 3,46 – 3,25 (*m*, 2H); 1,71 – 1,21 (*m*, 4H); 0,90 (*t*, $J = 7,1$ Hz, 3H).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz): δ 166,0; 153,4; 140,6; 139,4; 130,6; 120,4; 104,9; 61,0; 56,1; 39,6; 31,8; 20,2; 13,8.

Tabela 2: Resultados da avaliação da atividade antifúngica em CIM ($\mu\text{g/mL}$) contra *Candida* spp. das amidas preparadas (Continuação)

Substâncias ($\mu\text{g/mL}$) / Leveduras	<i>Candida albicans</i> ATCC-76485	<i>Candida albicans</i> ATCC-76645	<i>Candida albicans</i> LM-111	<i>Candida albicans</i> LM-122	<i>Candida tropicalis</i> ATCC-13803	<i>Candida tropicalis</i> LM-31	<i>Candida tropicalis</i> LM-71	<i>Candida tropicalis</i> LM-14
 (5)	1024	1024	1024	1024	1024	1024	1024	1024
 (6)	+	+	+	+	+	+	+	+
 (7)	+	+	+	+	+	+	+	+
 (8)	256	256	256	256	256	256	512	512
Meio de cultura	+	+	+	+	+	+	+	+
Controle	-	-	-	-	-	-	-	-

(+): Crescimento do microrganismo. (-): Não houve crescimento do microrganismo.

Fonte: Oliveira, 2016.

Na atividade antifúngica, a CIM, expressa em $\mu\text{g/mL}$, das amidas bioativas foi considerada a menor concentração capaz de inibir o visualmente o crescimento do microrganismo, quando comparado ao controle contendo o meio de cultura e o

inóculo. A atividade antimicrobiana das amidas preparadas foi interpretada com atividade e sem atividade, conforme os seguintes critérios de CIM: 50-500 µg/mL é considerado um composto com bioatividade ótima; 600-1500 µg/mL é considerado um composto de moderada bioatividade; acima de 1500 µg/mL é considerado um composto com fraca bioatividade ou produto inativo frente às cepas de *Candida* spp. (SARTORATTO et al., 2004; HOUGHTON, 2007).

Entre as oito amidas sintetizadas, apenas três amidas apresentaram atividade frente às cepas de leveduras do gênero *Candida*, duas amidas apresentaram uma atividade moderada e a outra uma ótima atividade biológica. A *N*-(4-hidroxifenil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilamida (**8**) foi a substância de melhor atividade biológica, apresentando os valores menores de CIM frente a todas as cepas testadas, porém não foi possível analisar seus espectros de Infravermelho e de Ressonância magnética nuclear em função de um problema nos aparelhos que fazem essa leitura. Posteriormente serão realizadas as identificações das moléculas. Por enquanto, temos certeza de que o produto foi formado através das placas de cromatografia de camada delgada analítica. No presente trabalho além de ter sido avaliada a atividade antifúngica frente a cepas de *Candida* spp, também foram definidas as relações estrutura-atividade das amidas obtidas.

Com base nisso, observou-se que as três substâncias que apresentaram bioatividade possuem como substituinte um anel aromático monossustituído, que é o caso das amidas: *N*-(4-metilbenzil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilamida (**4**), *N*-(4-clorobenzil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilamida (**5**) e *N*-(4-hidroxifenil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilamida (**8**), que apresentam monossustituição e foram bioativos frente a todas as cepas de *Candida*.

A primeira substância analisada foi a *N*-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il-metil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilamida (**1**), composto que apresenta o grupo dióxi-metilênico no anel aromático que é derivado da amina utilizada, não foi bioativa frente às cepas, sugerindo que a presença deste grupo não resulta em bioatividade.

O composto *N*-benzil-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilamida (**2**) apresenta apenas um anel aromático sem substituição, onde se pode sugerir a não bioatividade comparando-o com os compostos *N*-(4-metilbenzil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilamida (**4**), *N*-(4-clorobenzil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilamida (**5**) e *N*-(4-hidroxifenil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilamida (**8**), que apresentam monossustituição e foram bioativos.

A amida *N*-isobutil-3-(3,4,5-trimetoxifenil) acrilamida (**3**) e a *N,N*-dietil-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilamida (**7**) possuem um grupo alquílico ligado ao nitrogênio, na forma de cadeia carbônica que não resulta em atividade biológica. Os compostos *N*-(4-metilbenzil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilamida (**4**) e o *N*-(-4-clorobenzil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilamida (**5**) apresentaram bioatividade moderada frente as cepas de *C. albicans* e *C. tropicalis* com CIM de 1024 µg/mL, visto que a presença do anel monossustituído proporcionou uma atividade moderada. A 1-(pirrolidin-1-il)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)prop-2-en-1-ona (**6**) possui um anel pirrólico como substituinte que não causou nenhuma sensibilidades nas cepas testadas.

Entre as substâncias bioativas se observa que a natureza moderadamente eletronegativa ou eletropositiva do grupo químico não influencia na bioatividade, pois o grupo doador de elétrons como a metila presente na *N*-(4-metilbenzil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilamida (**4**) ou o retirador de elétrons como o cloro presente na *N*-(-4-clorobenzil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilamida (**5**), resulta em derivados equipotentes.

Contudo no derivado *N*-(4-hidroxifenetil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilamida (**8**), a presença da hidroxila fenólica resultou em um aumento da potência fungicida, sendo quatro vezes mais potente para a maioria das cepas, inibindo quase todas as cepas com CIM de 256µg/mL, com exceção das cepas *Candida tropicalis* LM-71 e a *Candida tropicalis* LM-14 com uma CIM de 512 µg/mL. Além disso, compostos fenólicos como é o exemplo de derivados do ácido ferúlico e o ácido 4-O-acetilferulico são bioativos, inibindo o crescimento de *C. albicans* e *C. krusei*, como também compostos fenólicos como timol e carvacrol possuem atividades contra ampla gama de bactérias e fungos patogênicos e são empregados na indústria para a produção de enxaguantes bucais e cremes dentais (VIDO, 2004; GUZMAN, 2014).

6. CONCLUSÕES

No presente estudo, foram preparadas oito amidas estruturalmente relacionadas, utilizando o ácido 3,4,5-trimetóxi-cinâmico como material de partida, onde foi reagido com oito aminas estruturalmente diferentes. A avaliação dos produtos contra *Candida* spp., resultou em três compostos bioativos, sendo que um apresentou uma ótima bioatividade, enquanto as outros dois apresentaram uma bioatividade moderada.

Na análise da relação estrutura-atividade, pôde-se observar que a presença do anel aromático com o grupo dióxi-metilênico, do anel aromático sem substituição, grupos alquílicos ligados ao nitrogênio acarretam uma não bioatividade por parte da molécula. Já a presença de uma hidroxila fenólica ligada ao anel aromático monossustituído resultou em um aumento da potência antifúngica, sendo quatro vezes mais potente na maioria das cepas, em relação às outras duas substâncias que também se apresentaram bioativas.

Com base nos resultados obtidos, as amidas com substituintes fenólicos mostram-se interessantes para o desenvolvimento de novos protótipos de fármacos antifúngicos seguros.

REFERÊNCIAS

- ANDES, D. Clinical utility of antifungal pharmacokinetics and pharmacodynamics. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 17, p. 533-40, 2004.
- ANDRADE, E. D. Terapêutica Medicamentosa em Odontologia. 2ª ed. São Paulo: **Artes Médicas**, 2006
- ANDRIOLI, J. L. et al. Frequência de leveduras em fluido vaginal com e sem suspeita clínica de candidíase vulvovaginal. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 31, n. 4, p. 300-4, 2009.
- ARAÚJO, J. C. L. V.; LIMA, E. O.; CABALLOS, B. S. O.; FREIRE, K. R. L.; SOUZA, E. L. Ação antimicrobiana de óleos essenciais sobre microorganismos potencialmente causadores de infecções oportunistas. **Revista de Patologia Tropical**, v. 33, p. 55-64, 2004.
- BARBEDO, L. S.; SGARBI, D. S. G. Candidíase. **Jornal brasileiro de Doenças Sexualmente**, Niterói, v. 22, p. 22-38, 2010.
- BEZERRA, D. P.; MILITAO, G. C., CASTRO, F. O.; PESSOA, C.; MORAES, M. O.; SILVEIRE, R. A.; LIMA, M. A.; ELMIRO, F. J.; COSTA-LOTUFO, L. V. Piplartine induces inhibition of leukemia cell proliferation triggering both apoptosis and necrosis pathways. **Toxicologia In Vitro**, p. 1– 8, 2007.
- BEZERRA, D. P.; PESSOA, C.; DE MORAES, M. O. ; SAKER-NETO, N.; SILVEIRA, E. R.; COSTA-LOTUFO, L.V. Overview of the therapeutic potential of pipilartine (piperlongumine). **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 48, p. 453-463, 2013.
- BODIWALA, H. S.; SINGH, G.; SINGH R, D. C. S.; SHARMA, S. S.; BHUTANI, K. K.; SINGH, I. P. Antileishmanial amides and lignans from *Piper cubeba* and *Piper retrofractum*. **Journal of Natural Medicines**, v. 61, p. 418-421, 2007.
- BRUNTON, L. L. GOODMAN & GILMAN: **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 12ª ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2012.
- CAPRON, M. A.; WIEMER, D. F. Piplaroxide, na ant-repellent piperidine epoxide from *Piper tuberculatum*. **Journal of Natural Products**, v. 59, p. 794 – 795, 1996.
- CARDOSO, B. C. **Efeito de antifúngicos em suspensões de biofilmes de *Candida albicans* e *Candida dubliniensis***. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia - Engenharia de Bioprocessos) - Escola de Engenharia e Universidade do Minho, Portugal, 2004.
- CASTRO, B.; DORMOY, J. R.; EVIN, G.; CASTRO, B.; Peptide coupling reagents IV (1) benzotriazole N-oxytrisdimethylamino phosphonium hexafluorophosphate (B.O.P.). **Tetrahedron Letters**, 1975.

CARVALHO, G. C. Química moderna. **Editora scipione**, 1997, p. 469.

CHAVES, G. M.; CAVALVANTI, M. A. Q.; PORTO, A. L. F. Pathogenicity characteristics of stocked and fresh yeast strains. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 34, 197-202, 2003.

CLELAND, R.; SQUIRES, E. Evalution of new antimicrobials "*in vitro*" and in experimental animal infections. In: LORIAN, V. M. D. **Antibiotics in Laboratory Medicine**. Willians & Wilkins, p. 739-788, 1991.

COLOMBO, A. L. Epidemiology and treatment of hematogenous candidiasis: a Brazilian perspective. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 4, p.113-118, 2000.

COLOMBO, A. L.; GUIMARÃES, T.; SILVA, L. R.; DE ALMEIDA MONFARDINI, L. P.; CUNHA, A. K.; RADY, P.; ALVES, T.; ROSAS, R. C. Prospective observational study of candidemia in São Paulo, Brazil: incidence rate, epidemiology, and predictors of mortality. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 28, p. 570-576, 2007.

COLOMBO, A. L., et al. Brazilian guidelines for the management of candidiasis - a joint meeting report of three medical societies: Sociedade Brasileira de Infectologia, Sociedade Paulista de Infectologia and Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 17, n. 3, p. 283–312, 2013.

COSTA-LOTUFO, L. V.; MONTENEGRO, R. C.; ALVES, A. P. N. N.; MADEIRA, S. V. F.; PESSOA, C.; MORAES, M. E. A.; MORAES, M. O. A Contribuição dos Produtos Naturais como Fonte de Novos Fármacos Anticâncer: Estudos no Laboratório Nacional de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará. **Revista Virtual de Química**, v. 2, n. 1, p. 47-58, 2010.

COUTO, E. M. P.; CARLOS, D.; MACHADO, E. R. Candidíase em neonatos: uma revisão epidemiológica. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, São Paulo, v. 15, p. 197-213, 2011.

CROCCO, E. I.; MIMICA, L. M. J.; MURAMATU, L. H.; GARCIA, C.; SOUZA, V. M.; RUIZ, L. R. B.; CLARISSE, Z. Identificação de espécies de *Candida* e susceptibilidade antifúngica in vitro: estudo de 100 pacientes com candidíases superficiais. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 79, p. 689-697, 2004.

DYER, L. A.; PALMER, A. D. N. Piper: A model genus for studies of phytochemistry, ecology, and evolution. Boston, **Kluwer Academic Publisher**, 2004.

EGUSA, H. et al. Oral candidosis in HIV-infected patients. **Current HIV Research Journal Impact & Description**, v. 6, n. 6, p. 485-99, 2008.

FELIPE, C. F. B.; SOUSA-FILHO, J. T.; SOUZA, L. E. O.; SILVEIRA, J. A.; UCHOA, E. A.; SILVEIRA, E. R.; PESSOA, O. D. L.; VIANA, G. S. B. Piplartine, na amide

alkaloid from *Piper tuberculatum*, presentes aniolytic and antidepressant effects in mice. **Phytomedicine**, v. 14, p. 605 – 612, 2007.

GIOLO, M. P., SVIDZINSKI, T. I. E. Fisiopatogenia, epidemiologia e diagnóstico laboratorial da candidemia. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 46, n. 3, p. 225-34, 2010.

GUZMAN, J. D. Natural Cinnamic Acids, Synthetic Derivatives and Hybrids with Antimicrobial Activity. **Journal Molecules**.Colombia, p. 19292-19349, 2014.

HAZEN, K. C. New and emerging pathogen yeasts. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 8, p. 462-478,1995.

HARTMANN, A.; MISSIO, R.; HAMMAD, M. P.; ALVES, I. A. Incidência de *Candida* spp. na mucosa oral de pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) no município de Santo Ângelo-RS. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, v. 6, n. 3, p. 1-12, 2016.

HOLANDA, A. A. R. et al. Candidíase vulvovaginal: sintomatologia, fatores de risco e colonização anal concomitante. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 29, n. 3, p. 3-9, 2007.

HOLETZ, F. B.; HOMES, M. J.; LEE, C. C.; STEVENTON, G. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 7, p. 1027-1031, 2002.

HOUGHTON, P. J.; HOWES, M. J.; LEE, C. C.; STEVENTON, G. Uses and abuses of *in vitro* tests in ethnopharmacology: visualizing an elephant. **Journal of Etnopharmacology**, v. 110, p. 391-400, 2007.

IWASHITA, M.; OKA, N.; OHKUBO, S.; SAITO, M.; NAKAHATA, N. Piperlongumine a constituent of *Piper longum* L., inhibits rabbit platelet aggregation as a thromboxane A(2) receptor antagonist. **European Journal of Pharmacology**, v. 570, p. 38-42, 2007.

JARAMILLO, M. A., MANOS, P. S. Phylogeny and patterns of floral diversity in the genus *Piper* (Piperaceae). **American Journal of Botany**, v. 88, p. 706-716, 2001.

JOHN, J. E. Natural products as lead structures: a role for biotechnology. **Drug Discovery Today**, v. 15, n. 11/12, p. 409-410, 2010.

JOLLIÉ, M. M.; LASSEN, K. M. Evolution of amide bond formation. **Arkivoc**, v. 8, p. 189-250, 2010.

LÓPEZ-MARTÍNEZ, R. Candidosis, a new challenge. **Clinics in Dermatology**, v. 28, n. 2, p. 178–184, 2010.

MURRAY, P. R. Micoses Oportunistas. In: MURRAY, P. R.; ROSERTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. **Microbiologia médica**. 6ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, cap 74, p. 728-751, 2009.

MENEZES, E. A.; GUERRA, A. C. P.; RODRIGUES, R. C. B.; PEIXOTO, M. M. L. V.; LIMA, L. S.; CUNHA, F. A. Isolamento de *Candida* spp. no mamilo de lactantes do banco de leite humano da universidade federal do ceará e teste de suscetibilidade a antifúngicos. **Journal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 40, n. 5, p. 299-305, 2004.

NAGLIK, J. R.; CHALLACOMBE, J.; HUBE, B. *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 67, n. 3, p. 400-428, 2003.

NASCIMENTO, P. F. C.; NASCIMENTO, A. C.; RODRIGUES, C. S.; ANTONIOLLI, A. R. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Brazilian Journal Pharmacognosy**, v. 17, n. 1, p. 108-113, 2007.

NAVICKIENE, H. M.; ALECIO, A. C.; KATO, M. J.; BOLZANI, V. D.; YOUNG, M. C.; CAVALHEIRO, A. J.; FURLAN, M. Antifungal amides from *Piper hispidum* and *Piper tuberculatum*. **Phytochemistry**, v. 55, p. 621 – 626, 2000.

NETO, P. V. **Ação antifúngica de plantas medicinais e da própolis frente a leveduras do gênero *Candida*, isoladas da cavidade bucal**. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ponta Grossa, 2004.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. **Journal of Natural Products**, v. 79, n. 3, p. 629-661, 2016.

PARK, B. S.; SON, D. J.; PARK, Y. H.; KIM, T. W.; LEE, S. E. Antiplatelet effects of amides isolated from the fruit of *Piper longum* L. **Phytomedicine**, v. 14, p. 853 – 855, 2007.

PARMAR, V. S.; JAIN, S.C.; BISHT, K. S.; JAIN, R.; TANEJA, P.; JHA, A. ; TYAGI, O. D.; PRASAD, A . K.; Wengel, J.; Olesen, C.E; Boll, P.M. Phytochemistry of the Genus *Piper*. **Phytochemistry**, v. 46, n. 4, p. 597-673, 1997.

PIROFSKI. L.; CASADEVALL. A. Rethinking T cell immunity in oropharyngeal candidiasis. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 206, n. 2, p. 269-73, 2009.

RANG, H.P., DALE, M.M., RITTER, J.M., FLOWER, R.J., HENDERSON, G. **Farmacologia**. 7ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.

RAJAN, P.; VEDERNIKOVA, I.; COS, P.; BERGHE, D. V.; AUGUSTYNS, K.; HAEMERS, A.; Synthesis and Evaluation of Caffeic Acid Amides as Antioxidants; **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 11, p. 215-217, 2001.

REX, J. H.; WALSH, T. J.; SOBEL, J. D. *et al.* Practice Guidelines for the treatment of candidiasis. **The Journal Infectious Diseases**, v. 30, p. 662-678, 2000.

RODRIGUES, G. M. C. *et al.* Estudo de colonização por *Candida* sp. na cavidade oral de indivíduos soropositivos e soronegativos para HIV-1 no noroeste Paulista, Brasil. **Revista Panam Infectology**, v. 9, n. 3, p. 26-31, 2007.

SALLES, J. M. C.; SALLES, M. J. C. **Antimicrobianos (antibacterianos, antifúngicos, antivirais, antiparasitários) Quando indicar, como usar**. 20ªed. Belém: Editora Universitária da UFPA, 2000.

SARTORATTO, A.; MACHADO, A. L. M.; DELARMELINA, C.; FIGUEIRA, G. M.; DUARTE, M. C. T.; REHDER, V. L. G. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, p. 275-280, 2004.

SHIN, K. Y.; WON, B. Y.; HEO, C.; KIM, H. J.; JANG, D.P.; PARK, C. H. *et al.* BT-11 improves stress-induced memory impairments through increment of glucose utilization and total neural cell adhesion molecule levels in rat brains. **Journal of Neuroscience Research**, v. 87, p. 260-268, 2009.

SILVA, R. V.; NAVICKIENE, H. M.; KATO, M. J.; BOLZANI, V. D. A. S.; MEDA, C. I.; YOUNG, M. C.; FURLAN, M. Antifungal amides from *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum*. **Phytochemistry**, v.59, p.521 – 527, 2002.

SOYSA, N. S.; SAMARANAYAKE, L. P.; ELLEPOLA, N. A. Antimicrobials as a contributory factor in oral candidosis - a brief overview. **Oral Diseases**, v. 14, n. 2, p. 138-143, 2008.

TAVARES, W. **Manual de antibióticos e quimioterápicos antiinfeciosos**. 3ª ed. São Paulo: Atheneu; 2001.

TAYLOR, D. W., HICKEY, L. J. Phylogenetic Evidence for the Herbaceous Origin of Angiosperms. **Plant Systematics and Evolution**, v. 180, p. 137-156, 1992.

TSAI, I. L.; LEE, F. P.; WU, C. C.; DUH, C. Y.; ISHIKAWA, T.; CHEN, J. J.; CHEN, Y. C.; SEKI, New cytotoxic cyclobutanoid amides, a new furanoid lignan and anti-platelet aggregation constituents from *Piper arborescens*. **Planta Medica**, v.71, p.535 – 542, 2005.

VIDO, D. L. R. **Comparação da composição química e das atividades biológicas dos óleos essenciais de folhas de populações de *Hedyosmum brasiliense* Mart. Ex Miq. Provenientes da Serra do Mar e Serra da Mantiqueira (Mata Atlântica)**. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, 2009.

ZACCHINO, S. A.; YUNES, R. A.; CECHELIN, V.; ENRIZ, R. D.; ROUZNETSOV, V. The need for new antifungal drugs: screening for antifungal compounds with a selective 108 mode of action with emphasis on the inhibitors of the fungal cell wall. In: RAI M, MARAES D. Plant derived antimycotics: current trends and future prospects. **The Haworth Press**, p. 1-41, 2003.

YANG, Y. L. Virulence factors of *Candida* species. **Journal of Microbiology Immunology and Infection**, v. 36, p. 223-228, 2003.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL, V. F. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, v. 24, p. 147-152, 2001.